

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年11月8日 (08.11.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/83594 A1

(51) 国際特許分類: C08J 3/12, A61K 9/16, 47/34

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/03599

(22) 国際出願日: 2001年4月26日 (26.04.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2000-130383 2000年4月28日 (28.04.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 田辺製薬株式会社 (TANABE SEIYAKU CO., LTD.) [JP/JP]; 〒541-8505 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鈴木健彦

(SUZUKI, Takehiko) [JP/JP]; 〒563-0104 大阪府豊能郡豊能町光風台5-9-20 Osaka (JP). 松川泰久 (MAT-SUKAWA, Yasuhisa) [JP/JP]; 〒545-0053 大阪府大阪市阿倍野区松崎町2-7-19 Osaka (JP). 鈴木 彰 (SUZUKI, Akira) [JP/JP]; 〒664-0017 兵庫県伊丹市瑞ヶ丘3-47-3 Hyogo (JP).

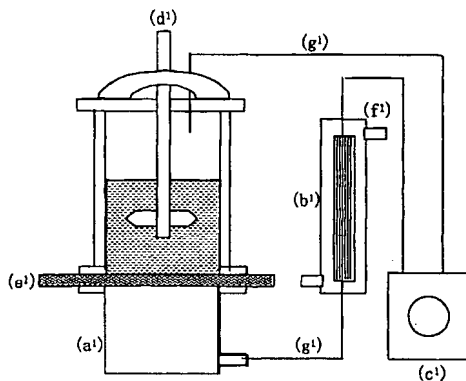
(74) 代理人: 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.); 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR PREPARING MICROSPHERE

(54) 発明の名称: マイクロスフェアの製法



(57) Abstract: A method for preparing a microsphere using the method of drying in water from an emulsion comprising a water phase and, emulsified therein, an organic phase containing an organic solvent and a polymer being difficult to be dissolved in water, characterized in that (1) an apparatus having a gas separating membrane is used, (2) the emulsion to be subjected to the drying in water is fed to one side of the gas separating membrane, and (3) the organic solvent contained in the emulsion is distilled off to the other side of the gas separating membrane. The method is an improved commercial method for preparing a microsphere which can remove an organic solvent with good efficiency and is desirable also from environmental and hygienic view points, since all the operations of the method can be carried out in a closed system.

(57) 要約:

有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したエマルションから水中乾燥法によりマイクロスフェアの製造する方法において、(1)気体分離膜を備えた装置を用い、(2)水中乾燥に付されるエマルションを気体分離膜の一方の側に供給し、(3)気体分離膜の他方の側へエマルションに含まれる有機溶媒を留去することを特徴とする、有機溶媒を効率よく除去し、また一連の操作を密閉系でも行うことができ、環境衛生上も望ましいマイクロスフェアの改良した工業的製法を提供する。

WO 01/83594 A1



(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

## マイクロスフェアの製法

## 5 技術分野

本発明は、水中乾燥法によるマイクロスフェアの改良製法、更に詳しくは、水より沸点の低い有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したエマルションから水中乾燥法でマイクロスフェアを製造するにあたり、気体分離膜を備えた装置を用い、水中乾燥すべきエマルションを気体分離膜の一方の側に供給し、他方の側へ有機溶媒を留去させることによって、効率よく有機溶媒を除いて所望のマイクロスフェアを製造する、特に密閉系でも行うことができる、工業的なマイクロスフェアの製法に関する。

## 背景技術

マイクロスフェアの製法の一つとして水中乾燥法と一般に呼ばれている方法があり、それは、沸点が水より低く水と非混和性である有機溶媒に水難溶性ポリマーを溶解させて得られる有機相を水相中に分散してO/W型エマルションを調製し、該有機溶媒を除去する方法である(例えば、特公昭56-19324号、特開昭63-91325号、特開平8-151321号、ジャインらの文献(Kajeev Jainら、"Controlled Drug Delivery by Biodegradable Poly(Ester) Devices: Different Preparative Approaches", Drug Development and Industrial Pharmacy、24(8)巻、703-727頁、1998年)、特開昭60-100516号、特開昭62-201816号、特開平9-221417号、および特開平6-211648号を参照)。

この水中乾燥法では有機溶媒の除去が環境上問題となっている。

例えば、薬物を含むポリマーの塩化メチレン溶液を水相に乳化し、そのまま室温で長時間攪拌して脱溶媒する方法(特開平9-221417号等)が知られているが、この方法では、塩化メチレンは水相を経由して、気相に放散される。

ところが、神奈川県では排出口での塩化メチレンの濃度を50ppm以下とすることを規定した公害防止条例が設けられており、(クロロカーボン衛生協会1

996年発行；「クロロカーボン適正使用ハンドブック」）、塩化メチレン、クロロホルムなどの有機溶媒については、1999年7月13日付で公布された「特定化学物質の環境への排出量の把握等および管理の改善の促進に関する法律」および2000年3月29日付の政令において、第一種指定化学物質とされており、事業者による管理の改善が促進されることとなっている。

このため、塩化メチレン等の有機溶媒を工業的に使用する場合には、外部への排出が制御できる密閉系製造装置を用いることが環境問題上必要である。

さらに、製造されるマイクロスフェアが医薬用途（特に、注射剤、デポ剤等の非経口用途）に使用される場合、製造段階での無菌化が必須であり、菌汚染防止のため、外部からの菌汚染がない密閉系でのマイクロスフェア製造が必要となっている。

そのような有機溶媒の排出制御方法の一つとして、密閉系でマイクロスフェアを製造する方法が検討されており、例えば、外水相と気相との接触面積、エマルションの循環・攪拌速度を規定すると共に、液面付近での気体の移動速度を高めるためにエマルションに気体を吹き付ける方法が提案されている（特開平9-221418号）。

しかしながら、液面への気体の吹き付けでは、気体と接触できるエマルションの表面積に限界があるため、実用化に際しては、有機溶媒除去の効率が充分でなく、また、有機溶媒除去効率が低いため、凝集防止のためには多量の水相を用いる必要があり、マイクロスフェア製造装置の小型化が困難であるという問題がある。

一方、廃水处理、有機溶剤蒸気の回収を目的として、高分子膜を使用することも提案されており [Ind. Eng. Chem. Res., 32, 533 (1993)]、塩素系有機溶剤の分離回収膜等が見出されてきている（特開平5-15749号、特開平6-55166号、特開平7-284641号、特開平8-57274号、特開平9-117642号）。

#### 発明の開示

本発明は、従来公知の水中乾燥法によるマイクロスフェアの製法において、難点となっている有機溶媒の除去を効率よく、しかも密閉系でも行うことができ、

環境衛生上も好ましい、工業的に優れたマイクロスフェアの改良製法を提供することを目的とするものである。

5 本発明者らは、水中乾燥法によるマイクロスフェアの製法において、気体分離膜を用いてエマルジョンを処理することにより、有機溶媒を該気体分離膜を通して留去させ、効率よく除去できることを見出した。本発明はかかる新知見に基づいて完成したものである。

すなわち、本発明は、水より沸点の低い有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したエマルジョンから水中乾燥法でマイクロスフェアを製造するにあたり、(1)気体分離膜を備えた装置を用い、(2)水中乾燥法に付されるエマルジョンの一部または全部を気体分離膜の一方の側に供給し、(3)気体分離膜の他方の側へエマルジョンに含まれる有機溶媒を留去することを特徴とする  
10 マイクロスフェアの製法を提供するものである。

本発明の方法によれば、密閉系での水中乾燥法によりマイクロスフェアを製造することができるため、例えば、医薬品、特に、注射剤、デボ剤等の非経口投与製剤の製造に必須である無菌環境でのマイクロスフェア製造が可能となる利点を  
15 有する。また密閉系で行った場合、外部に有機溶媒を放散させないため、環境問題を引き起こさない利点も有する。

さらに、本発明の方法は有機溶媒の除去を効率よく行い得るため、短時間でマイクロスフェアの製造が可能である。それに伴って、有機相に添加した薬物等の水相への漏出が抑制でき、またマイクロスフェアの凝集が生じにくいという利点  
20 がある。

加えて、本発明の方法では、少ない水相で有機溶媒を除去できるため、装置の小型化が可能となり、密閉系を得やすく、工業化に際して問題となるエマルジョンの攪拌抵抗を最小限に抑制できる特徴を有し、また本発明の方法では、有機溶媒留去後の液をエマルジョンに循環させることにより、連続的に操作することができるため、マイクロスフェアの工業的製法としてきわめて優れている。  
25

#### 図面の簡単な説明

第1図は循環型のマイクロスフェア製造装置の概略図である。

第2図は浸漬型のマイクロスフェア製造装置の概略図である。

第3図は乳化機能付循環型のマイクロスフェア製造装置の概略図である。

第4図は乳化機能付浸漬型のマイクロスフェア製造装置の概略図である。

第5図は温度調節機能付浸漬型のマイクロスフェア製造装置の概略図である。

5 第6図は浸漬型マイクロスフェア製造装置における窒素ガス通気速度と塩化メチレン除去効率との関係を表すグラフである。

第7図は37℃におけるマイクロスフェアからのタルチレリン積算溶出量を経時的に示すグラフである。

第8図は37℃におけるマイクロスフェア中の酢酸リユープロレリン残存量を経時的に示すグラフである。

10 符号の説明

a<sup>1</sup>～a<sup>5</sup>: 密閉容器

b<sup>1</sup>, b<sup>3</sup>: 中空糸膜モジュール

b<sup>2</sup>, b<sup>4</sup>, b<sup>5</sup>: 円筒型中空糸膜モジュール

c<sup>1</sup>, c<sup>3</sup>: 循環ポンプ

15 d<sup>1</sup>, d<sup>3</sup>, d<sup>5</sup>: 攪拌翼

d<sup>2</sup>, d<sup>4</sup>: マグネティック攪拌子

e<sup>1</sup>, e<sup>3</sup>: フィルター

f<sup>1</sup>, f<sup>3</sup>: 通(吸)気口

f<sup>2</sup>, f<sup>4</sup>, f<sup>5</sup>: 通気経路

20 g<sup>1</sup>, g<sup>3</sup>: 循環経路

h<sup>2</sup>, h<sup>4</sup>: マグネティックスターラー

i<sup>3</sup>, i<sup>4</sup>: ホモジナイザー

j<sup>5</sup>: 温度調節ジャケット

発明を実施するための最良の形態

25 本発明のマイクロスフェアの製法に適用されるエマルションは、水より沸点が低い有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したO/W型エマルションであり、その有機相に薬物；色素、顔料等の画像形成物質(例えば、特開昭62-95366号、同62-254833号、特開平6-118636号)等を含有させておけば、これらを含むマイクロスフェアを製造すること

ができる。

上記「エマルション」は、有機相の形態によって調製法が異なるが、いずれも常法にしたがって調製することができる。該有機相の形態としては以下のものが含まれる。

- 5 (a)水難溶性ポリマー溶液に、薬物等が直接溶解もしくは分散されている有機相。これを水相中に分散するとO/W型エマルションとなる(特公昭56-19324号、特開昭63-91325号、特開平6-32732号、特開平8-151321号、前記ジャインらの文献など)。

- 10 (b)水難溶性ポリマー溶液に、薬物等の水溶液が分散されているW/O型エマルションからなる有機相。そのW/O型エマルションを水相中に分散すると、(W/O)/W型エマルションとなる(特開昭60-100516号、特開昭62-201816号、特開平9-221417号、前記ジャインらの文献など)。

- 15 (c)2種以上の水難溶性ポリマーを用い、一方の水難溶性ポリマー溶液中に分散されている他方の水難溶性ポリマー溶液中に、薬物等が溶解もしくは分散しているO/O型エマルションからなる有機相。そのO/O型エマルションを水相中に分散すると(O/O)/W型エマルションとなる(特開平6-211648号)。

- 20 これらの方法において用いられる水よりも沸点が低い有機溶媒としては、ハロゲン化脂肪族炭化水素系溶媒(塩化メチレン、クロロホルム、四塩化炭素、クロロエタン、ジクロロエタン、トリクロロエタンなど)、脂肪酸エステル系溶媒(酢酸メチル、酢酸エチルなど)、芳香族炭化水素系溶媒(ベンゼン)、脂肪族炭化水素系溶媒(n-ヘキサン、n-ペンタン、シクロヘキサンなど)、ケトン系溶媒(メチルエチルケトンなど)、エーテル系溶媒(ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、メチルイソブチルエーテル、メチルtert-ブチルエーテル、テトラヒドロフランなど)が挙げられる。

- 25 これらの有機溶媒は、有機溶媒除去条件で、水より15~60℃沸点が低いものが好ましく、とりわけ、塩化メチレン、クロロホルム、酢酸エチルを使用するのが好ましい。

本発明方法で用いられる水難溶性ポリマーとしては、各種の水難溶性ポリマーが適用できるが、製造されるマイクロスフェアが医薬用途である場合には、生体

内分解性ポリマーを用いるのが好ましい。

そのような生体内分解性ポリマーとしては、ヒドロキシ脂肪酸のポリエステルおよびその誘導体(例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリクエン酸、ポリリンゴ酸、ポリ-β-ヒドロキシ酪酸、ε-カプロラクトン開環重合体、乳酸-グリコール酸共重合体、2-ヒドロキシ酪酸-グリコール酸共重合体、ポリ乳酸とポリエチレングリコールとの共重合体、ポリグリコール酸とポリエチレングリコールとの共重合体など)、α-シアノアクリル酸アルキルエステルのポリマー(例えば、ポリブチル-2-シアノアクリレートなど)、ポリアルキレンオキサレート(例えば、ポリトリメチレンオキサレート、ポリテトラメチレンオキサレートなど)、ポリオルソエステル、ポリカーボネート(例えば、ポリエチレンカーボネート、ポリエチレンプロピレンカーボネートなど)、ポリオルソカーボネート、ポリアミノ酸(例えば、ポリ-γ-L-アラニン、ポリ-γ-ベンジル-L-グルタミン酸、ポリ-γ-メチル-L-グルタミン酸など)、ヒアルロン酸エステルなどが挙げられ、これらの1種または2種以上を用いることができる。

これらポリマーのうち、特に好ましいものはヒドロキシ脂肪酸のポリエステルであり、それらは平均分子量が2000~約800000の範囲内、より好ましくは2000~約200000の範囲内のものが特に好適である。

また、上記ヒドロキシ脂肪酸のポリエステルのうち、更に好ましいのは、ポリ乳酸、乳酸-グリコール酸共重合体、2-ヒドロキシ酪酸-グリコール酸共重合体である。乳酸-グリコール酸共重合体における乳酸/グリコール酸のモル比は、好ましくは90/10~30/70、より好ましくは80/20~40/60であり、2-ヒドロキシ酪酸-グリコール酸共重合体における2-ヒドロキシ酪酸/グリコール酸のモル比は、好ましくは90/10~30/70、より好ましくは80/20~40/60である。

なお、上記水難溶性ポリマーは有機相中0.01~90重量%、好ましくは0.1~70重量%の濃度となるように有機溶媒に溶解される。

本発明の水中乾燥法に供されるO/W型エマルションは、上記水難溶性ポリマーを溶解した有機溶媒溶液(有機相)と水(水相)とを混合して乳化することにより調製されるが、この際、有機相を水相に添加して一気に乳化してもよく、あるいは



は有機相を少量の水相に添加して乳化後、形成されたエマルジョンにさらに水相を添加して形成してもよい。

上記乳化は、常法により、例えば、プロペラ式攪拌機、タービン型攪拌機、高圧乳化機、超音波分散装置、スタティックミキサーなどの既知の乳化装置による攪拌下、有機相と水相とを混合することにより容易に実施可能である。また、乳

5 膜乳化により乳化を行うには、有機相と水相との間に、多孔質膜(必要に応じて表面を化学修飾した多孔質セラミック、多孔質ガラス等)を設け、ポリマー溶液を加圧して多孔質膜の細孔から有機相を水相中に押出せばよく、必要に応じ、水相を攪拌してもよい[例えば、ジャーナル オブ マイクロエンカプスレーション(Journal of Microencapsulation), 11(2), 171-178(1994年)記載の方法]。

また、噴霧により乳化を行う場合には、既知の噴霧装置を用い、有機相を水相に噴霧すればよい。この際、必要に応じ、水相を攪拌してもよい。噴霧装置としては、例えば、空気ノズル、圧力ノズル、超音波ノズル、ロータリーアトマイザ

15 得られるエマルジョンにおける有機相と水相の割合は、有機相に対して水相が1～10,000容量倍、好ましくは2～1,000容量倍となるようにする。

上記のエマルジョンを形成させる際、エマルジョンを安定化するために乳化剤、例えばアニオン性界面活性剤(オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム等)、非イオン性界面活性剤(ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル [Tween 80、Tween 60(日光ケミカルズ製)等]、ポリエチレンヒマシ油誘導体 [HCO-60、HCO-50(日光ケミカルズ製)]、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセル

20 ロース、メチルセルロース、レシチン、ゼラチン等)を水相に添加してもよい。

25 水相への乳化剤の添加量は0.001～20重量%、好ましくは0.01～10重量%の範囲である。

上記エマルジョンの有機相に薬物；色素、顔料等の画像形成物質等を含有させることにより、それら薬物等を含有するマイクロスフェアが得られる。これら薬物等は、水難溶性ポリマーの重量に基づいて、0.01～60重量%、好ましく

は0.1～40重量%、さらに好ましくは1～30重量%の範囲で含有される。

なお、これら薬物等をマイクロスフェア化するに際しては、使用するポリマーの種類、使用溶媒等の種類に応じ、該薬物等の取り込率を向上させるために、必要に応じて該薬物等を予め微粒子化してもよい。さらに該薬物等が塩を形成しているためにマイクロスフェアへの取り込率が低い場合には、遊離の形に変換した後

にマイクロスフェア化を行ってもよい。

上記薬物等を微粒子化するには、慣用の微粒子製法を適宜使用することができ、ジェットミル粉碎、ハンマーミル粉碎、回転型ボール粉碎、振動ボールミル粉碎、ビーズミル粉碎、シェーカーミル粉碎、ロッドミル粉碎、チューブミル粉碎、高圧による湿式粉碎等により、物理的に粉碎する粉碎法や、また薬物等を一旦溶媒に溶解後、pH調整、温度変化、溶媒組成の変更等を行って、晶析させ、遠心分離あるいは濾過等の方法で回収する、いわゆる晶析法などが採用され得る。

本発明方法が適用され得る薬物としては、抗腫瘍剤、生理活性ペプチド、抗生物質、解熱・鎮痛・消炎剤、鎮咳去痰剤、鎮静剤、筋弛緩剤、抗てんかん剤、抗潰瘍剤、抗うつ剤、抗アレルギー剤、強心剤、不整脈治療剤、血管拡張剤、降圧利尿剤、糖尿病治療剤、抗脂血症剤、抗凝血剤、止血剤、抗結核剤、ホルモン剤、麻薬拮抗剤、骨吸収抑制剤、骨形成促進剤、血管新生抑制剤、抗嘔吐剤、ビタミン剤等の各種薬物が挙げられ、これら薬物の具体例として下記のものが含まれる。

抗腫瘍剤：タキソール、ブレオマイシン、メソトレキセート、アクチノマイシンD、マイトマイシンC、硫酸ビンブラステチン、硫酸ビンクリスチン、ダウノルビシン、アドリアマイシン、ネオカルチノスタチン、シトシンアラビノシド、フルオロウラシル、テトラヒドロフルリル-5-フルオロウラシル、クレスチン、ピシバニール、レンチナン、タモキシフェン、レバミゾール、ベスタチン、アジメキソン、グリチルリチン、シスプラチン、カルボプラチン等。

生理活性ペプチド：インスリン、ソマトスタチン、サンドスタチン、成長ホルモン、プロラクチン、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、ACTH誘導体、メラノサイト刺激ホルモン(MSH)、甲状腺ホルモン放出ホルモン(TRH)およびその誘導体(例えば、タルチレリンなど)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、黄体形成ホルモン(LH)、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)およびその誘導体

(例えば、酢酸リユープロレリンなど)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、バソプレッシン、デスモプレシン、オキシトシン、カルシトニン、エルカトニン、副甲状腺ホルモン(PTH)、グルカゴン、ガストリン、セクレチン、パンクレイオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)、エンケファリン、エンケファリン誘導体、エンドルフィン、キョウトルフィン、インターフェロン類(例;  $\alpha$ 型、 $\beta$ 型、 $\gamma$ 型等)、インターロイキン類(例; 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、等)、タフトシン、サイモポイエチン、サイモシン、サイモスチムリン、胸腺液性因子(THF)、血中胸腺因子(FTS)およびその誘導体、およびその他の胸腺因子、腫瘍壊死因子(TNF)、コロニー誘発因子(CSF、GCSF、GMCSF、MCSF等)、モチリン、ダイノルフィン、ボムベシン、ニューロテンシン、セルレイン、ブラジキン、ウロキナーゼ、アスパラキナーゼ、カリクレイン、サブスタンスP、インスリン様成長因子(IGF-I、IGF-II)、神経成長因子(NGF)、細胞増殖因子(EGF、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、PDGF、塩酸FGF、塩基性FGF等)、骨形成因子(BMP)、神経栄養因子(NT-3、NT-4、CNTF、GDNF、BDNF等)、血液凝固因子の第VIII因子、第IX因子、塩化リゾチーム、ポリミキシンB、コリスチン、グラミシジン、バシトラシン、エリスロポエチン(EPO)、トロンボポエチン(TPO)等。

抗生物質：ゲンタマイシン、ジベカシン、カネンドマイシン、リビドマイシン、トブラマイシン、アミカシン、フラジオマイシン、シソマイシン、塩酸テトラサイクリン、塩酸オキシテトラサイクリン、ロリテトラサイクリン、塩酸ドキシサイクリン、アンピシリン、ピペラシリン、チカルシリン、セファロチン、セファロリジン、セフォチアム、セフスロジン、セフメノキシム、セフメタゾール、セファゾリン、セフォタキシム、セフォペラゾン、セフチゾキシム、モキサラクタム、チエナマイシン、スルファゼシン、アズスレオナム等。

解熱・鎮痛・消炎剤：5-アミノサリチル酸、サリチル酸、スルピリン、フルフェナム酸、ジクロフェナック、インドメタシン、モルヒネ、塩酸ペチジン、酒石酸レボルファノール、オキシモルフォン等。

鎮咳去痰剤：塩酸エフェドリン、塩酸メチルエフェドリン、塩酸ノスカピン、

リン酸コデイン、リン酸ジヒドロコデイン、塩酸アロクラマイド、塩酸クロフェダノール、塩酸ピコペリダミン、クロペラスチン、塩酸プロトキロール、塩酸イソプロテレノール、硫酸サルブタモール、硫酸テレブタリン等。

5 鎮静剤：クロルプロマジン、プロクロルペラジン、トリフロペラジン、硫酸アトロピン、臭化メチルスコポラミン等。

筋弛緩剤：メタンスルホン酸プリジノール、塩化ツボクラリン、臭化パンクロニウム等。

抗てんかん剤：フェニトイン、エトサクシミド、アセタゾラミドナトリウム、クロルジアゼポキシド等。

10 抗潰瘍剤：メトクロプロミド、塩酸ヒスチジン、エンプロスチル等。

抗うつ剤：イミプラミン、クロミプラミン、ノキシプチリン、硫酸フェネルジン等。

15 抗アレルギー剤：塩酸ジフェンヒドラミン、マレイン酸クロルフェニラミン、塩酸トリペレナミン、塩酸メトジラミン、塩酸クレミゾール、塩酸ジフェニルペラリン、塩酸メトキシフェナミン等。

強心剤：トランスパイオキシカンファー、テオフィロール、アミノフィリン、塩酸エチレフリン、デノパミン等。

不整脈治療剤：プロプラノロール、アルプレノロール、ブフェトロール、オキシプレノロール、アジミライド等。

20 血管拡張剤：塩酸オキシフェドリン、塩酸ジルチアゼム、塩酸トラゾリン、ヘキソベンジン、硫酸バメタン等。

降圧利尿剤：ヘキサメトニウムブロミド、ペントリニウム、塩酸メカミルアミン、塩酸エカラジン、クロニジン等。

25 糖尿病治療剤：グリミジンナトリウム、グリピザイド、塩酸フェンフォルミン、塩酸ブフォルミン、メトフォルミン等。

抗脂血症剤：プラバスタチンナトリウム、シンバスタチン、クリノフィブラート、クロフィブラート、シンフィブラート、ベザフィブラート等。

抗凝血剤：ヘパリンナトリウム等。

止血剤：トロンボプラスチン、トロンビン、メナジオン亜硫酸水素ナトリウム、

アセトメナフトン、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸、トラネキサム酸、カルバゾクロブスルホン酸ナトリウム、アドレノクロムモノアミノグアニジンメタンスルホン酸塩等。

抗結核剤：イソニアジド、エタンブトール、パラアミノサリチル酸等。

- 5      ホルモン剤：プレドニゾロン、リン酸ナトリウムプレドニゾリゾロン、デキサメタゾン塩酸ナトリウム、リン酸ヘキサエストロール、メチマゾール、エストロン等。

麻薬拮抗剤：酒石酸レバロルファン、塩酸ナロルフィン、塩酸ナロキソン等。

骨吸収抑制剤：イブリフラボン等。

- 10      骨形成促進剤：BMP、PTH、TGF- $\beta$ 、IGF-Iなどのポリペプチド等。

血管新生抑制剤：血管新生抑制ステロイド、フマギリン、フマギロール誘導体等。

- 15      抗嘔吐剤：オンダンセトロン、トロピセトロン等の5-ヒドロキシトリプタミンタイプ3受容体拮抗薬、ニューロキニン1受容体拮抗薬等。

ビタミン剤：ビタミンA、 $\beta$ -カロチン、ビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ナイアシン、ニコチン酸アミド、パントテン酸、パントテン酸カルシウム、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸、イノシトール、パラアミノ馬尿酸、ビオチン、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK等。

- 20      薬物は、それ自身であっても、薬理学的に許容される塩であってもよい。例えば、薬物がアミノ基等の塩基性基を有する場合、無機酸(例；塩酸、硫酸、硝酸等)または有機酸(例；炭酸、コハク酸等)との塩が用いられる。また、薬物がカルボキシ基等の酸性基を有する場合、無機塩基(例；ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属)または有機塩基化合物(例；トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類)との塩が用いられる。
- 25

本発明方法によって、気体分離膜を通して有機溶媒を留去するには、

- (1) 気体分離膜のエマルションを供給する側と反対の側(他方の側、以下単に「エマルションの反対側」という)に通気する方法、
- (2) 気体分離膜のエマルションの反対側を減圧にする方法、または

(3) 気体分離膜の一方の側に供給されるエマルジョン(以下単に「エマルジョン側」という)を加温する方法

があり、これらのいずれか1つまたは2つ以上を組合せて行う。いずれの方法においても、エマルジョンを外気に触れない形で有機溶媒を留去するのが、無菌状態の保持、外気への有機溶媒放散防止の点で好ましい。

これらの有機溶媒留去方法について、以下にさらに詳細に説明する。

(1) 気体分離膜のエマルジョンの反対側に通気する方法：

通気する方法としては、送風、吸引等の公知のいずれの方法も採用されるが、通気される気体としては、空気、窒素ガス、ヘリウムガス、アルゴンガス等が用いられる。医薬品用マイクロスフェアを製造する場合には、これらの気体は無菌、無塵化(濾過)されたものを使用するのが好ましい。

気体の通気速度は、通気される膜表面積  $1\text{ m}^2$  あたり、1分間に0.8リットル以上、好ましくは6.7リットル以上で行われる。

(2) 気体分離膜のエマルジョンの反対側を減圧にする方法：

減圧には減圧ポンプ、水風ポンプ等を使用して行われ、エマルジョン側と該反対側との圧力差が、 $1\sim 100\text{ kPa}$ 、好ましくは $20\sim 100\text{ kPa}$ の範囲となるように減圧される。エマルジョン側が常圧、エマルジョンの反対側が減圧であるのが好ましい。

(3) エマルジョン側を加温する方法：

加温は、サーモスタット、外浴、蒸気浴等により、エマルジョンが所定の温度に維持されるように行われる。その温度範囲は、圧力との関係によるが、エマルジョンの反対側の圧力における有機溶媒の沸点以上とするのが好ましく、溶媒の種類によって異なるが、通常 $30\sim 80^\circ\text{C}$ 、好ましくは $40\sim 60^\circ\text{C}$ の範囲で行われる。

また、上記いずれの方法においても、エマルジョンからの有機溶媒の留去を効率よく行うために、エマルジョンを攪拌することが好ましく、その攪拌には、スクレー型、マグネティックスターラー型、パドル型などの公知の攪拌手段が採用される。

上記方法による有機溶媒の留去は、マイクロスフェア中の有機溶媒が3500

0 p p m以下となるまで行うのが好ましく、有機溶媒として塩化メチレンを使用  
する場合には、最終的な製剤中の残存量は6 0 0 p p m以下でなければならない  
が[日米E U医薬品規制整合化国際会議(I C H)に基づく医薬品の残留溶媒ガイ  
ドライン]、マイクロスフェア生成後の処理で更に有機溶媒を除去することもで  
5 ける。

本発明方法で上記有機溶媒の留去に用いられる気体分離膜としては、下記の浸  
透気化膜および多孔性膜が挙げられる。

#### (1)浸透気化膜

非多孔性膜(均質膜)であって、膜に対する気体分子の溶解度および膜中への拡  
散速度の差異により気体を分離するものである。その具体例としては、例えば、  
10 シリコンゴム製浸透気化膜(特に、ポリジメチルシロキサンで形成された浸透気  
化膜)、多孔質ポリテトラフルオロエチレンにシリコンゴムが充填された膜(特開  
平5-15749号公報を参照)、ポリビニルアルコール混合膜(ケミカルエンジ  
ニアリング1998年3月号25-29頁を参照)等が挙げられる。この膜の使  
15 用に際しては、水相1 m<sup>3</sup>当たり、0.1~10000 m<sup>2</sup>の膜、好ましくは水相  
1 m<sup>3</sup>当たり10~5000 m<sup>2</sup>の膜を使用するのが好ましい。

#### (2)多孔性膜

多孔質の膜内を流れる気体分子の速度差を利用して分離するのに適した膜であ  
り、その具体例としては、例えば、ポリテトラフルオロエチレンまたはポリプロ  
20 ピレン製の疎水性多孔質膜(Journal of Chemical Engineering of Japan, vol.  
31 no 1 pp. 153-156 (1998)を参照)、イオン化架橋キトサン/ポリアクリロニ  
トリル複合中空糸膜(Journal of Chemical Engineering of Japan, vol. 25 no.  
1 pp. 17-21 (1992)を参照)等が挙げられる。この膜の使用に際しては、水相1  
1 m<sup>3</sup>当たり、0.1~10000 m<sup>2</sup>の膜、好ましくは水相1 m<sup>3</sup>当たり10~5  
25 000 m<sup>2</sup>の膜を使用するのが好ましい。

本発明方法では、上記浸透気化膜および多孔性膜の何れも使用できるが、密閉  
容器を使用して無菌状態を保つには、膜からの菌侵入が不可能な浸透気化膜を用  
いるのが好ましい。

なお、これら気体分離膜によるエマルションの処理に際し、気体分離膜を透過

する有機溶媒の速度が、水の速度より大きい方が望ましいが、有機溶媒の方が水よりも沸点が低いため、温度条件により、気体分離膜の透過速度によらず、有機溶媒のみを選択的に除去することが可能である。

上記の気体分離膜を用いて有機溶媒を留去する場合、下記のような種々の形式が採用される。

(1)循環型：

エマルションの一部を気体分離膜の一方の側に導き、有機溶媒の除去操作を適用し、有機溶媒除去操作を行った後の液をエマルションに戻して循環させる方式で、その気体分離膜は、表面積を大きくするため、中空糸状の気体分離膜を束ねた形としたものを用い、中空糸状の気体分離膜の内側にエマルションを導通するのが好ましい。

このような循環型に適した気体分離膜としては、例えば、永柳工業株式会社製シリコーン膜モジュール「NAGASEP」、東レ株式会社製脱気膜エレメント「SG-100シリーズ」、高性能脱気膜エレメント「SG-100シリーズ」、三菱レイヨン株式会社製三層複合中空糸膜(脱気膜モジュール)、大日本インキ化学工業株式会社製「SEPAREL」中空糸膜モジュール等が挙げられる。

この場合、処理液の循環には、通常、循環ポンプ等を用いた、以下のような方法で液循環を行う。

(a)エマルションの一部としてエマルションの水相の一部分のみを分取して循環する方法

この方法で水相の一部分を分取するには、エマルションをフィルター(例えば、ステンレスメッシュフィルター、グラスフィルター、セラミックフィルター)に通す方法、上下動式液液向流装置(東京理化工機株式会社製作の抽出装置を応用)等を用いて有機相と水相との比重差を利用する方法等を適用することができ、このうち、フィルターを通す方法はエマルションの有機相部分の変形能が小さい場合に好適に適用することができる。この方法は水相の一部を循環するものであるため、径の小さい中空糸状の気体分離膜の内側に導通しても、中空糸状の気体分離膜が目詰まりを生じにくいという利点がある。

(b)エマルション状態のものを循環する方法



この方法は有機溶媒の除去処理に付したエマルションの一部分をそのまま循環させる方法であって、エマルションの有機相部分が気体分離膜に接触するため、有機相部分に合わせて気体分離膜を選択する必要がある。

5 また、中空糸状の気体分離膜の内側にエマルションの一部を導通する場合、目詰まりを防止するために中空糸状の気体分離膜の径を適宜選択する必要がある、気体分離膜のエマルションの反対側を減圧するか、または気体分離膜の一方の側に供給されるエマルションを加温するのが好ましい。

10 これら循環型で有機溶媒を除去する方法は、次の基本構成からなる装置により実施することができ、必要に応じてエマルションを充填する容器部分にフィルター、上下動式液液向流装置等を設けてもよい。

- (i) エマルションを充填する容器部分、
- (i i) エマルションから有機溶媒を留去するための気体分離膜モジュール、
- (i i i) 容器部分と気体分離膜モジュールとをつなぐ循環経路、および
- (i v) エマルションを気体分離膜モジュールに循環するためのポンプ。

15 (2) 浸漬型：

筒状の気体分離膜をエマルションに浸漬し、筒の内部に気体を通気する方法である。

20 筒状の気体分離膜は、表面積を大きくするために、筒の径を小さくした中空糸状の気体分離膜を束ねた形としたものを用い、この束をエマルションに浸漬し、筒状の気体分離膜の内側に気体を通気するのが好ましい。

この方法では、エマルションの有機相部分が気体分離膜に接触するため、有機相部分に合わせて気体分離膜を選択する必要がある。

25 このような方式で用いられる分離膜としては、具体的には、上記循環型と同じものが挙げられる。但し、エマルションの気体分離膜との接触のためにエマルションを攪拌することによって行う場合には、攪拌の障害とならないよう、平板型、円筒型にレイアウトされた中空糸膜の束を用いるのが好ましい。

これら浸漬型で有機溶媒を除去する方法は、次の基本構成からなる装置により実施することができる。

- (i) エマルションを充填する容器部分、および

(i i) エマルションから有機溶媒を留去するために、容器内のエマルションに浸漬する気体分離膜モジュール。

(3) 流路型：

この型の方法では、

- 5 a) 内部に筒状の気体分離膜を配置した流路の気体分離膜の外側にエマルションを流し、筒状の気体分離膜の内側に、エマルションの流れと逆向きに通気するか、または
- b) 流路内に配置された筒状の気体分離膜の内側にエマルションを流し、気体分離膜の外側に、エマルションの流れと逆向きに通気する
- 10 ことにより、エマルションを流路通過段階で有機溶媒を留去してマイクロスフェアを製造する。

この方法によれば、循環法、浸漬法のように、容器内にエマルションを充填し、有機溶媒を除去後、容器内の内容物からマイクロスフェアを取得する操作を各回毎に行う(バッチ処理する)ことなく、連続的なマイクロスフェア製造が可能となる。

15

本発明方法を適用するための装置は、上記各種の気体分離膜を適用する形態に応じて設計することができ、特に制限はされないが、好適な具体例は後記実施例に示されるものが例示される。

上記の方法で留去される有機溶媒は回収して再利用するのが好ましい。回収方法としては、冷却して液化させる方法、冷水へ導通する方法あるいは多孔性粒子に導通して吸着させる方法などがある。そのような吸着方法には、繊維状活性炭吸着装置、汎用型クロロカーボン排出ガス回収装置、小型クロロカーボン排出ガス回収装置、低濃度クロロカーボン排出ガス回収装置、粒状活性炭吸着装置、球状活性炭流動床吸着装置、圧縮深冷凝縮装置等(クロロカーボン適正使用ハンドブック」85-93頁を参照)が用いられる。より具体的には、栗本鐵工所製溶剤回収・脱臭装置「アメーグ」、東洋紡製低濃度溶剤ガス吸着・濃縮処理装置「ハロニーター」等の市販のものがそのまま用いられる。

20

25

本発明方法で得られるマイクロスフェアは、有機溶媒留去処理したエマルションから、遠心分離、濾過あるいは篩にかける等の常法により分離回収することが

できる。

さらに、マイクロスフェアを水相中で有機溶媒の沸点以上に加温し(特願平1  
1-39599号)、または高融点添加物でマイクロスフェアを覆った後、加温  
乾燥する(特開平9-221417号)ことにより、残留する有機溶媒を除去する  
5 こともできる。

このようにして得られるマイクロスフェアは、さらにその表面に付着した水相  
添加物等を洗浄除去し、所望により、マイクロスフェア同士の凝集を防止するた  
めに糖あるいは糖アルコール、無機塩等、好ましくは、マンニトール、ソルビト  
ールなどの凝集防止剤を添加した後、凍結乾燥に付す。

10 また、所望の粒子径のマイクロスフェアを得るために、例えば1000  $\mu\text{m}$ 以  
下の篩にかけることが好ましく、特にマイクロスフェア製剤を注射剤として用い  
る場合に、通針性を向上させるために、例えば150  $\mu\text{m}$ またはそれ以下の径で  
篩過を行うのが好ましい。

本発明方法で製造されるマイクロスフェアは、その製造の際に有機相に薬物；  
15 色素、顔料等の画像形成物質等を配合させることにより、それら薬物等含有マイ  
クロスフェアが得られ、配合物により、医薬用途、ノンカーボン紙、水性インク  
等を使用することができる。

薬物を含むマイクロスフェアの場合には、細粒剤、懸濁剤、埋め込み製剤、注  
射剤、貼付剤等として使用することができ、それらは経口投与または非経口投与  
20 [筋肉内投与、皮下投与、血管内投与、経皮投与、経粘膜投与(口腔、膣、直腸粘  
膜投与等)]することができる。

またこのような薬物含有マイクロスフェアを注射剤、経口ドライシロップ等の  
懸濁剤として使用する場合には、分散剤(非イオン性界面活性剤、ポリエチレン  
ヒマシ油誘導体、セルロース系増粘剤)を加えた液剤とするのが好ましく、また、  
25 上記分散剤、賦形剤(マンニトール、ソルビトール、ラクトース、ブドウ糖、キ  
シリトール、マルトース、ガラクトース、シュクロース)を加えて、マイクロ  
スフェアを水に分散後、凍結乾燥、減圧乾燥、噴霧乾燥等の方法で固形化し、用時  
に、注射用蒸留水等に添加して投与することもできる。

上記注射剤には、また、適宜、保存剤(メチルパラベン、プロピルパラベン、

ベンジルアルコール、クロロブタノール、ソルビン酸、ホウ酸など)、等張化剤(塩化ナトリウム、グリセリン、ソルビトール、ブドウ糖など)、pH調節剤(水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、塩酸、リン酸、クエン酸、シュウ酸、炭酸、酢酸、アルギニン、リジンなど)などを添加することもできる。

## 5 実施例

つぎに実施例、比較例および実験例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されない。

### (装置の例)

10 本発明方法によるマイクロスフェアの製造に使用され得る装置の例を第1図～第5図に示す。

第1図に示す装置を用いてマイクロスフェアを製造するには、水中乾燥に付されるエマルションを密閉容器(a<sup>1</sup>)に満たし、攪拌翼(d<sup>1</sup>)により攪拌させながら、密閉容器(a<sup>1</sup>)の中程に設けられたステンレスメッシュ等のフィルター(e<sup>1</sup>)を通過するエマルションの水相の一部を、シリコンゴム製の循環経路(g<sup>1</sup>)を介して循環ポンプ(c<sup>1</sup>)により、中空糸膜モジュール中を通して循環させる。この際、中空糸膜モジュール中を水相の一部が通過する間にこれに含まれる有機溶媒が中空糸膜を通過・透過し、通(吸)気口(f<sup>1</sup>)からの通気・吸気により有機溶媒が気化されて効率よく系外に留去され、密閉容器(a<sup>1</sup>)に設けられたフィルター(e<sup>1</sup>)上部にマイクロスフェアが形成される。

20 第2図に示す装置を用いてマイクロスフェアを製造するには、水中乾燥に付されるエマルションを密閉容器(a<sup>2</sup>)中に満たし、円筒型中空糸膜モジュール(b<sup>2</sup>)をエマルションに浸漬する。この状態でマグネティックスターラー(h<sup>2</sup>)およびマグネティック攪拌子(d<sup>2</sup>)によりエマルションを攪拌しながら、通気経路(f<sup>2</sup>)から通気することにより、エマルション中の有機溶媒は中空糸膜を通過・透過し、効率よく系外に留去され、密閉容器(a<sup>2</sup>)にマイクロスフェアが形成される。

25 第3図に示す装置を用いてマイクロスフェアを製造するには、水中乾燥に付されるエマルションの油相および水相部分を密閉容器(a<sup>3</sup>)中に満たし、ホモジナイザー(i<sup>3</sup>)で乳化する。乳化後、攪拌翼(d<sup>3</sup>)により攪拌させながら、密閉容器(a<sup>3</sup>)の中程に設けられたステンレスメッシュ等のフィルター(e<sup>3</sup>)を通過するエ

マルションの水相の一部を、シリコーンゴム製の循環経路( $g^3$ )を介して循環ポンプ( $c^3$ )により、中空糸膜モジュール中を通しながら循環させる。この際、中空糸膜モジュール中を水相の一部が通過する間にこれに含まれる有機溶媒が中空糸膜を通過・透過し、通(吸)気口( $f^3$ )からの通気・吸気により有機溶媒が気化されて効率よく系外に留去され、密閉容器( $a^3$ )に設けられたフィルター( $e^3$ )上部にマイクロスフェアが形成される。

第4図に示す装置を用いてマイクロスフェアを製造するには、水中乾燥に付されるエマルションの油相および水相部分を密閉容器( $a^4$ )中に満たし、ホモジナイザー( $i^4$ )で乳化する。乳化後、円筒型中空糸膜モジュール( $b^4$ )をエマルションに浸漬する。この状態でマグネティックスターラー( $h^4$ )およびマグネティック攪拌子( $d^4$ )によりエマルションを攪拌しながら、通気経路( $f^4$ )から通気することにより、エマルション中の有機溶媒は中空糸膜を通過・透過し、効率よく系外に留去され、密閉容器( $a^4$ )にマイクロスフェアが形成される。

第5図に示す装置を用いてマイクロスフェアを製造するには、水中乾燥に付されるエマルションを密閉容器( $a^5$ )中に満たし、円筒型中空糸膜モジュール( $b^5$ )をエマルションに浸漬する。この状態で攪拌翼( $d^5$ )によりエマルションを攪拌しながら、通気経路( $f^5$ )から通気することにより、エマルション中の有機溶媒は中空糸膜を通過・透過し、効率よく系外に留去され、密閉容器( $a^5$ )にマイクロスフェアが形成される。この装置では温度調節ジャケット( $j^5$ )によりエマルションの温度を調節できるため、更に効率よく有機溶媒を系外に留去することができる。

なお、第1図～第5図に記載の装置には、必要に応じて、通(吸)気口( $f^1$ )、( $f^3$ )、通気経路( $f^2$ )、( $f^4$ )、( $f^5$ )を、冷却機能、吸着機能等を有する有機溶媒の回収装置に連結してもよい。

## 25 実施例 1

(1) 乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量: 10000; 乳酸: グリコール酸 = 1:1; PLGA5010; 和光純薬製) 0.45 g に塩化メチレン(試薬特級; 片山化学工業製) 0.75 g を加え、ミキサー(タッチミキサー MT-51; Yamato 製)で混合して均一な溶液を調製し、油相とする。

この油相を、0.5%ポリビニルアルコール(ポバール220C;クラレ製)水溶液3mLに添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー;キネマティカAG、リタウ社製、チップ径7mm)を用いて2500rpmで5分間乳化を行い、O/W型エマルションを得る。

- 5 (2)このエマルションを予め500mLの水を入れた第1図記載の装置の円筒状密閉容器(内径:80mm;内容積:800mL)に注ぎ、スリーワンモータ(BL-600;HEIDON社製)に装着した直径50mmの4枚攪拌羽根(プロペラR型;HEIDON社製)により室温で1時間400rpmで攪拌する。

10 この後、4枚攪拌羽根による攪拌と同時に、容器の下部に設けたステンレスメッシュフィルター(目開き:20 $\mu$ m)を通過した水相をシリコーンゴム製中空糸膜モジュールに導き、中空糸の外側から塩化メチレンを減圧留去(外圧:80kPa)し、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを通過した水相を容器に循環する。この循環を250mL/分で2時間行う。

15 なお、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールとしては、次の仕様を有するNAGASEPM40-A(永柳工業株式会社製)を使用する。

中空糸膜の膜厚: 40 $\mu$ m

中空糸膜の膜内径: 170 $\mu$ m

中空糸の本数: 3000

中空糸膜の有効膜面積: 0.3m<sup>2</sup>

- 20 (3)密閉容器の内容物を日本薬局方ふるい100メッシュ(目開き:150 $\mu$ m)を通過させた後、ステンレスメッシュフィルター(目開き:20 $\mu$ m)により、マイクロスフェア粒子を分離する。得られるマイクロスフェア粒子を蒸留水で数回洗浄後、ガラス製サンプル管(満水容量5mL;井内盛永堂製)に移し、少量の蒸留水を添加し、凍結乾燥機(RLE-52ES;共和真空社製)により-20℃で  
25 3時間(外圧:0.3kPa以下)、20℃で15時間(外圧:0.3kPa以下)凍結乾燥することにより、平均粒子径60 $\mu$ mのマイクロスフェア粒子を得る。

こうして得られるマイクロスフェア粉末0.01gをクロロホルム(高速液体クロマトグラフィー用;関東化学製)10mLに溶解し、試験液とした。この試験液2 $\mu$ Lをガスクロマトグラム装置(本体GC-14B、インテグレータCR-

7 A島津製作所製)で測定し [カラム充填剤: ガスクロパック 54 (GLサイエンス製); カラム温度: 150℃; 検出器: FID; 注入温度: 170℃; 移動気体: 窒素; 流速: 60 mL/h]、予め、塩化メチレンをクロロホルムに溶解した標準液により作成した検量線に内挿して試験液濃度を求め、これと使用したマイクロスフェアの重量とから、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、25000 ppmであった。

#### 実施例 2

攪拌のみの時間を30分、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールの循環時間を1時間とする以外は実施例1と同様の操作を行い、平均粒子径69 μmのマイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例1-(3)と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、30000 ppmであった。

#### 実施例 3

(1)実施例1-(1)で得られるO/W型エマルションを予め500 mLの水を入れた第1図記載の装置の円筒状密閉容器(内径: 80 mm; 内容積: 800 mL)に注ぎ、スリーワンモータ(BL-600; HEIDON社製)に装着した直径50 mmの4枚攪拌羽根(プロペラR型; HEIDON社製)により室温、400 rpmで攪拌すると同時に、容器の下部に設けたステンレスメッシュフィルター(目開き: 20 μm)を通過した水相をシリコーンゴム製中空糸膜モジュールに導き、中空糸の外側から塩化メチレンを減圧留去(外圧: 80 kPa)し、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを通過した水相を容器に循環する。この循環を250 mL/分で1時間行う。

なお、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールとしては、実施例1-(2)と同一のものを使用する。

(2)密閉容器の内容物を実施例1-(3)と同様に処理することにより、平均粒子径66 μmのマイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例1-(3)と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、32000 ppmであった。

#### 実施例 4

(1)実施例1-(1)で得られるO/W型エマルジョンを予め500mLの水を入れた第1図記載の装置の円筒状密閉容器(内径:80mm;内容積:800mL)に注ぎ、スリーワンモータ(BL-600;HEIDON社製)に装着した直径5cmの4枚攪拌羽根(プロペラR型;HEIDON社製)により室温、200rpmで攪拌すると同時に、容器の下部に設けたステンレスメッシュフィルター(目開き:20 $\mu$ m)を通過した水相をシリコーンゴム製中空糸膜モジュールに導き、中空糸の外側から塩化メチレンを減圧留去(外圧:80kPa)し、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを通過した水相を容器に循環する。この循環を100mL/分で1時間行う。

10      なお、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールとしては、実施例1-(2)と同一のものを使用する。

(2)密閉容器の内容物を実施例1-(3)と同様に処理することにより、平均粒子径64 $\mu$ mのマイクロスフェア粒子を得る。

15      なお、実施例1-(3)と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、30000ppmであった。

#### 実施例5

(1)平均粒子径3 $\mu$ mのビタミンB<sub>12</sub>(ローヌプーラン社製)微粉末0.2gおよび乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量:10000;乳酸:グリコール酸=1:1;PLGA5010;和光純薬製)1.8gの混合物に塩化メチレン3gを20      に加え、バス型ソニケーター(ソノレックススーパーRK514BH;バンデリン社製)にて均一な分散液を調製し油相とする。

25      この油相を、0.5%ポリビニルアルコール(ポバール220C;クラレ製)水溶液8mLに添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー;キネマティカAG、リタウ社製、チップ径10mm)を用いて2500rpmで5分間乳化を行い、O/W型エマルジョンを得る。

(2)このエマルジョンを予め500mLの水を入れた第1図記載の装置の密閉容器(内径:80mm;内容積:800mL)に注ぎ、スリーワンモータ(BL-600;HEIDON社製)に装着した直径50mmの4枚攪拌羽根(プロペラR型;HEIDON社製)により室温で30分間400rpmで攪拌する。



この後、4枚攪拌羽根による攪拌と同時に、容器の下部に設けたステンレスメッシュフィルター(目開き:  $20\mu\text{m}$ )を通過した水相を実施例1に記載のシリコーンゴム製中空糸膜モジュールに導き、中空糸の外側から塩化メチレンを減圧留去(外圧:  $80\text{kPa}$ )し、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを通過した水相を容器に循環する。この循環を  $250\text{mL}/\text{分}$  で1時間行う。

(3)密閉容器の内容物を実施例1-(3)と同様に処理することにより、平均粒子径  $70\mu\text{m}$  の赤色マイクロスフェア粒子を得る。

こうして得られるマイクロスフェア粒子を  $0.01\text{g}$  秤量し、そこに  $5\text{mL}$  のアセトニトリルを添加し、マイクロスフェア粒子を溶解させる。その後、 $0.5\text{M}$  塩化ナトリウム水溶液  $10\text{mL}$  を添加し、沈殿物を分離するために  $2000$  回転で5分間遠心分離し、得られた上清の  $360\text{nm}$  における吸光度を分光光度計(UV-2500PC; 島津製作所製)で測定し、別途作成の検査線から、含有ビタミン $\text{B}_{12}$ 量を推定し、その結果とマイクロスフェアの重量とから、マイクロスフェア粒子のビタミン $\text{B}_{12}$ 含有率を算出したところ、 $7.8\%$ であった。

また、ビタミン $\text{B}_{12}$ の仕込み量、マイクロスフェア粒子のビタミン $\text{B}_{12}$ 含有率およびマイクロスフェア生成量から、仕込み量の  $78\%$  のビタミン $\text{B}_{12}$  がマイクロスフェア粒子に取り込まれていた。

なお、実施例1-(3)と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、 $21000\text{ppm}$ であった。

## 実施例6

(1)平均粒子径  $3\mu\text{m}$  のビタミン $\text{B}_{12}$  (ローヌプーラン社製)微粉末を  $0.25\text{g}$  および乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量:  $10000$ ; 乳酸: グリコール酸 =  $1:1$ ; PLGA5010; 和光純薬製)  $9.75\text{g}$  の混合物に塩化メチレン  $15\text{g}$  (試薬特級; 片山化学工業製)を加え、バス型ソニケーター(ソノレックススーパーRK514BH; バンデリン社製)を用いて均一な分散液を調製し、油相とする。

この油相を、 $0.5\%$ ポリビニルアルコール(ポバール220C; クラレ製)水溶液  $40\text{mL}$  に添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー; キネマティカAG、リタウ社製、チップ径  $20\text{mm}$ )を用いて  $2500\text{rpm}$  で5分間乳化

を行い、O/W型エマルションを得る。

(2)このエマルションを予め500mLの水を入れた第2図に示した円筒状密閉容器(内径:110mm;内容積:1L)に注ぎ、マグネットスターラ(IS-3DS;池田理化製)を用いて、40mmのテフロンコート攪拌子により、室温、600rpmで攪拌すると同時に、容器内に挿入した円筒型シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを用い、中空糸の内側に窒素ガスを通気して容器内から塩化メチレンを除去する。この際の窒素ガス通気速度は4.5L/minとする。この操作を1時間行う。

なお、円筒型シリコーンゴム製中空糸膜モジュールとしては、次の仕様を有するNAGASEP M60-1800円筒形を使用する。

円筒の直径:	100mm
円筒の長さ:	120mm×120mm
中空糸膜の膜厚:	60μm
中空糸膜の内径:	200μm
中空糸膜の外径:	320μm
中空糸の本数:	1800
中空糸膜の有効膜面積:	0.15m <sup>2</sup>

(3)密閉容器の内容物を実施例1-(3)と同様に処理することにより、平均粒子径59.6μmの赤色マイクロスフェア粒子を得る(収率78%)。

なお、実施例1-(3)および実施例5-(3)と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子のビタミンB<sub>12</sub>および塩化メチレン含有率はそれぞれ2.3%および36000ppmであり、また、ビタミンB<sub>12</sub>の取り込率は、仕込み量の90.3%であった。

#### 実施例7

(1)平均粒子径3μmのビタミンB<sub>12</sub>(ローヌプーラン社製)微粉末0.1gおよび乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量:10000;乳酸:グリコール酸=1:1;PLGA5010;和光純薬製)0.9gの混合物に塩化メチレン2gを加え、バス型ソニケーター(ソノレックススーパーRK514BH;バンデリン社製)にて均一な分散液を調製し油相とする。

この油相を、0.5%ポリビニルアルコール(ゴセノールEG-40; 日本合成化学社製)水溶液400mLを予め満たした第3図に記載の円筒形密閉容器(内径: 80mm; 内容積: 800mL)に添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー; キネマティカAG、リタウ社製、チップ径20mm)を用いて800

5 0rpmで3分間乳化を行い、O/W型エマルションを得る。

(2)このエマルションをスリーワンモータ(BL-600; HEIDON社製)に装着した直径50mmの4枚攪拌羽根(プロペラR型; HEIDON社製)により室温で30分間400rpmで攪拌する。

この後、4枚攪拌羽根による攪拌と同時に、容器の下部に設けたステンレスメッシュフィルター(目開き: 20 $\mu$ m)を通過した水相を実施例1に記載のシリコーンゴム製中空糸膜モジュールに導き、中空糸の外側から塩化メチレンを減圧留去(外圧: 80kPa)し、シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを通過した水相を容器に循環する。この循環を250mL/分で1時間行う。

10

(3)密閉容器の内容物を50mL容量のテフロン製遠沈管に移し、遠心分離機(KN-30F、久保田商事社製)で2000rpm、5分間遠心し、上清を廃棄し、沈降した粒子を少量の水で洗浄し、同様の遠心操作を行う。この操作を都合3回繰返し、最終的に得られたマイクロスフェア粒子を実施例1に記載の方法により凍結乾燥し、平均粒子径34.8 $\mu$ mの赤色マイクロスフェア粒子を得る。

15

なお、実施例1-(3)および実施例5-(3)と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子のビタミンB<sub>12</sub>および塩化メチレン含有率はそれぞれ7.9%および13500ppmであり、また、ビタミンB<sub>12</sub>の取り込率は、仕込み量の79.0%であった。

20

#### 実施例8

(1)平均粒子径3 $\mu$ mのビタミンB<sub>12</sub>(ローヌプーラン社製)微粉末0.1gおよび乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量: 10000; 乳酸: グリコール酸=1:1; PLGA5010; 和光純薬製)0.9gの混合物に塩化メチレン2gを加え、バス型ソニケーター(ソノレックススーパーRK514BH; バンデリン社製)にて均一な分散液を調製し油相とする。

25

この油相を、0.5%ポリビニルアルコール(ゴセノールEG-40; 日本合

成化学社製)水溶液400mLを予め満たした第4図に記載の円筒形密閉容器(内径:110mm;内容積:1L)に添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー;キネマティカAG、リタウ社製、チップ径20mm)を用いて8000rpmで3分間乳化を行い、O/W型エマルションを得る。

- 5 (2)マグネットスターラ(IS-3DS;池田理化製)を用いて、40mmのテフロン製攪拌子により、室温、600rpmで攪拌すると同時に、容器内に挿入した円筒型シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを用い、中空糸の内側に窒素ガスを通気して容器内から塩化メチレンを除去する。この際の窒素ガス通気速度は2.4L/minとする。この操作を1時間行う。

- 10 なお、円筒型シリコーンゴム製中空糸膜モジュールとしては、実施例6と同じものを用いた。

(3)これを実施例7-(3)の方法と同様に処理することにより平均粒子径29.0μmの赤色マイクロスフェア粒子を得る。

- 15 なお、実施例1-(3)および実施例5-(3)と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子のビタミンB<sub>12</sub>および塩化メチレン含有率はそれぞれ7.3%および12900ppmであり、また、ビタミンB<sub>12</sub>の取り込率は、仕込み量の73.0%であった。

#### 実施例9

- 20 (1)平均粒子径3μmのビタミンB<sub>12</sub>(ローヌプーラン社製)微粉末0.1gおよび乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量:10000;乳酸:グリコール酸=1:1;PLGA5010;和光純薬製)0.9gの混合物に塩化メチレン2gを加え、バス型ソニケーター(ソノレックススーパーRK514BH;パンデリン社製)にて均一な分散液を調製し油相とする。

- 25 この油相を、0.5%ポリビニルアルコール(ポバール220C;クラレ製)水溶液4mLに添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー;キネマティカAG、リタウ社製、チップ径10mm)を用いて2500rpmで5分間乳化を行い、O/W型エマルションを得る。

(2)このエマルションを予め500mLの水を入れた第5図に記載の円筒形密閉容器(内径:110mm;内容積:1L)に注ぎ、スリーワンモータ(BL-60

0 ; HEIDON社製)に装着した直径50mmの4枚攪拌羽根(プロペラR型 ; HEIDON社製)により室温で400rpmで攪拌すると同時に、容器内に挿入した円筒型シリコンゴム製中空糸膜モジュールを用い、室温で中空糸の内側に窒素ガスを1時間通気して容器内から塩化メチレンを除去する。この際の窒素ガス通気速度は3.6L/minとする。次いで、同条件で窒素ガスの通気を続けながら、恒温水循環装置(RM-6、ラウダ社製)で40℃に温度調節した水を密閉容器外側のジャケット部分に循環し、エマルションを3時間加温する。更に、同条件で窒素ガスの通気を続けながら、循環水の温度を60℃に上昇させて1時間塩化メチレンの除去を続ける。この操作の後、同条件で窒素ガスの通気を続けながら、循環水の温度を約5℃に下げ、エマルションの温度が約30℃以下となるまで冷却する。

なお、円筒型シリコンゴム製中空糸膜モジュールとしては、実施例6と同じものを用いた。

(3)これを実施例1-(3)の方法と同様に処理することにより平均粒子径57.8μmの赤色マイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例1-(3)および実施例5-(3)と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子のビタミンB<sub>12</sub>含有率および塩化メチレン含有率はそれぞれ4.3%および200ppm以下であり、また、ビタミンB<sub>12</sub>の取り込率は、仕込み量の42.9%であった。

#### 実施例10

(1)乳酸・グリコール酸共重合体(平均分子量：8000；乳酸：グリコール酸=1：1；RG502H；ベーリンガーインゲルハイム製)0.45g、タルチレリン水和物(TRH誘導体)50mgをガラス試験管に秤量し、塩化メチレン(試薬特級；片山化学工業製)2mLとエタノール(試薬特級；片山化学製)0.5mLの混液を加え、ミキサー(タッチミキサーMT-51；Yamato製)で混合して均一な溶液を調製する。この溶液を約60℃に加熱したブロックヒーター(ドライブロックバスMG-2、東京理化製)を用いて、窒素気流下で約30分間蒸発乾固させた後、簡易型凍結乾燥機(スピードバックコンセンレータ、サバト製)を用いてさらに有機溶媒を留去し、固溶体を調製する。

(2)得られた固溶体に塩化メチレン1 gを添加し、ミキサー(タッチミキサーMT-51; Y a m a t o製)で混合して均一な溶液を調製し、油相とする。

(3)0.5%ポリビニルアルコール(ゴセノールEG-40; 日本合成化学社製)水溶液400 mLを満たし、平板型シリコーンゴム製中空糸膜モジュールを円筒状に装着した第5図に記載の円筒形密閉容器(内径:100 mm; 内容積:1000 mL)中に油相を添加し、ホモジナイザー(ポリトロンホモミキサー; キネマティカAG、リタウ社製、チップ径20 mm)を用いて20000 rpmで3分間乳化を行い、O/W型エマルションを得る。なお、平板型シリコーンゴム製中空糸膜モジュールとしては、次の仕様を有するNAGASEP M60-290 L-650を使用し、乳化中、中空糸膜の内側に通気速度1.2 L/minで窒素ガスを通気する。

中空糸膜有効長さ: 290 mm

中空糸膜の膜厚: 60  $\mu$ m

中空糸膜の内径: 200  $\mu$ m

中空糸膜の外径: 320  $\mu$ m

中空糸の本数: 650

中空糸膜の有効膜面積: 0.15 m<sup>2</sup>

(4)乳化後、窒素ガスを通気したままの状態、素早く乳化用チップを抜き取り、スリーワンモーター(BL-600; HEIDON社製)に装着した直径50 mmの4枚攪拌羽根(プロペラR型; HEIDON社製)を装着し400 rpmの速度で室温にて1時間攪拌し、容器内から塩化メチレンを除去する。

(5)上記操作終了後、密閉容器の内容物(マイクロスフェア分散液)を目開き20  $\mu$ mのステンレス製メッシュ篩を通過させた後、50 mL容量のテフロン製遠沈管に移す。遠心分離機(KN-30F、久保田商事社製)で2000 rpm、10分間遠心し、上清を廃棄した後、沈降した粒子を少量の水で洗浄し、同様の遠心操作を都合3回繰返す。最終的に得られたマイクロスフェア粒子をガラス製サンプル管(満水容量5 mL; 井内盛永堂製)に移して、少量の蒸留水を添加し、凍結乾燥機(RLE-52ES; 共和真空社製)により、20℃で15時間(外圧:0.3 kPa以下)凍結乾燥し、平均粒子径7  $\mu$ mの白色マイクロスフェア粒子を得

る。

(6) マイクロスフェア粒子を0.01 g秤量し、3 mLのアセトニトリルを添加して、マイクロスフェア粒子を溶解させた。その後、0.035 Mギ酸緩衝液(pH 3.0) 2 mLを添加し、沈殿物を分離するために2000回転で5分間遠心分離し、得られた上清200  $\mu$  LをHPLC法で測定し、別途作成の検査線から、含有する薬物量を推定し、その結果とマイクロスフェアの重量とから、マイクロスフェア粒子の薬物含有率を算出したところ、8.9%であった。また、薬物の仕込み量、マイクロスフェア粒子の薬物含有率およびマイクロスフェア生成量から、仕込み量の89%の薬物がマイクロスフェア粒子に取り込まれていた。

(7) マイクロスフェア粉末0.02 gをクロロホルム(高速液体クロマトグラフィ用; 関東化学製) 1 mLに溶解し、試験液とした。この試験液2  $\mu$  Lをガスクロマトグラム装置(本体GC-14B、インテグレータCR-7A島津製作所製)で測定し[カラム充填剤: ガスクロパック54(GLサイエンス製); カラム温度: 150°C; 検出器: FID; 注入温度: 170°C; 移動気体: 窒素; 流速: 60 mL/h]、予め、塩化メチレンをクロロホルムに溶解した標準液により作成した検量線に内挿して試験液濃度を求め、これと使用したマイクロスフェアの重量とから、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、検出限界以下(100 ppm以下)であった。

#### 実施例 11

実施例10-(1)と同様の方法で調製した固溶体(実施例10-(1)の2倍量)に、塩化メチレン2 gを添加し、ミキサー(タッチミキサー MT-51; Yamato製)で混合して均一な溶液を調製し、油相とする。この油相を用い、0.5%ポリビニルアルコール水溶液の量は実施例10-(3)と同一とする以外は実施例10-(3)~(5)と同様の操作を行い、平均粒子径7  $\mu$  mの白色マイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例10-(6)、(7)と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子の薬物含有率および塩化メチレン含有率は、それぞれ10%、130 ppmであり、また、薬物の取り込み率は、仕込み量の100%であった。

#### 実施例 12

実施例 10-(1)と同様の方法で調製した固溶体(実施例 10-(1)の4倍量)に、塩化メチレン4 gを添加し、ミキサー(タッチミキサー MT-51; Yama ato 製)で混合して均一な溶液を調製し、油相とする。この油相を用い、0.5%ポリビニルアルコール水溶液の量は実施例 10-(3)と同一とする以外は実施例 10-(3)~(5)と同様の操作を行い、平均粒子径7  $\mu$ mの白色マイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例 10-(6)、(7)と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子の薬物含有率および塩化メチレン含有率は、それぞれ10%、270 ppmであり、また、薬物の取り込み率は、仕込み量の100%であった。

### 実施例 13

ポリ乳酸(平均分子量: 20000; R202H; ベーリンガーインゲルハイム製)0.225 g、酢酸リユープロレリン(LHRH誘導体、バッケム製)25 mgをガラス試験管に秤量し、塩化メチレン(試薬特級; 片山化学工業製)1.3 mLとエタノール(試薬特級; 片山化学製)0.25 mLの混液を加え、ミキサー(タッチミキサーMT-51; Yama ato 製)で混合して均一な溶液を調製する。この溶液を約60℃に加熱したブロックヒーター(ドライブロックバスMG-2、東京理化製)を用いて、窒素気流下で約30分間蒸発乾固させた後、簡易型凍結乾燥機(スピードバックコンセントレータ、サバト製)を用いてさらに有機溶媒を留去し、固溶体を調製する。

この固溶体を用い、これに添加する塩化メチレンの量および0.5%ポリビニルアルコール水溶液の量を実施例 10と同一とする以外は実施例 10-(2)~(5)と同様の操作を行い、操作終了後、密閉容器の内容物(マイクロスフェア分散液)から膜孔径5  $\mu$ mのポリビニリデンジフロライドメンブランフィルター(膜直径25 mm、デュラポアSVLP025、日本ミリポア製)を用いてマイクロスフェア粒子を分離した。得られたマイクロスフェア粒子をガラス製サンプル管(満水容量5 mL; 井内盛永堂製)に移して、少量の蒸留水を添加し、凍結乾燥機(RLE-52ES; 共和真空社製)により、20℃で15時間(外圧: 0.3 kPa以下)凍結乾燥し、平均粒子径12.9  $\mu$ mの白色マイクロスフェア粒子を得る。



こうして得られるマイクロスフェア粒子を5mg秤量し、1.5mLのアセト  
ニトリルを添加して、マイクロスフェア粒子を溶解させた。その後、0.5M塩  
化ナトリウム溶液3.5mLを添加し、沈殿物を分離するために2000回転で  
10分間遠心分離し、得られた上清200 $\mu$ LをHPLC法で測定し、別途作成  
5 の検査線から、含有する酢酸リュープロレリン(LHRH誘導体)量を推定し、そ  
の結果とマイクロスフェアの重量とから、マイクロスフェア粒子の酢酸リュー  
プロレリン含有率を算出したところ、7.5%であった。また、酢酸リュープロ  
レリンの仕込み量、マイクロスフェア粒子の酢酸リュープロレリン含有率およびマ  
イクロスフェア生成量から、仕込み量の84.5%の酢酸リュープロレリンがマ  
10 イクロスフェア粒子に取り込まれていた。

なお、実施例10-(7)と同様の方法により、マイクロスフェア粒子の塩化メ  
チレン含有量を算出したところ、520ppmであった。

#### 比較例1

(1)実施例1-(1)で得られるエマルジョンを予め500mLの水を入れた、第  
1図に記載の密閉容器(内径:80mm;内容積:800mL)に注ぎ、スリー  
15 ワンモータ(BL-600;HEIDON社製)に装着した直径50mmの4枚攪拌  
羽根(プロペラR型;HEIDON社製)により室温で3時間、400rpmで攪  
拌する。

(2)密閉容器の内容物を実施例1-(3)と同様に処理することにより、平均粒子  
20 径80 $\mu$ mのマイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例1-(3)と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン  
含有率を算出したところ、31000ppmであった。

#### 比較例2

(1)実施例1-(1)で得られるエマルジョンを予め500mLの水を入れた、第  
1図に記載の密閉容器(内径:80mm;内容積:800mL)に注ぎ、スリー  
25 ワンモータ(BL-600;HEIDON社製)に装着した直径50mmの4枚攪拌  
羽根(プロペラR型;HEIDON社製)により室温で2時間、400rpmで攪  
拌する。

(2)密閉容器の内容物を実施例1-(3)と同様に処理することにより、平均粒子

径  $73\ \mu\text{m}$  のマイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例 1-(3) と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、 $39000\ \text{ppm}$  であった。

#### 比較例 3

5 (1) 実施例 1-(1) で得られるエマルションを予め  $500\ \text{mL}$  の水を入れた、第 1 図に記載の密閉容器(内径： $80\ \text{mm}$ ；内容積： $800\ \text{mL}$ )に注ぎ、スリーワンモータ(BL-600；HEIDON社製)に装着した直径  $50\ \text{mm}$  の 4 枚攪拌羽根(プロペラ R 型；HEIDON社製)により室温で 1 時間、 $400\ \text{rpm}$  で攪拌する。

10 (2) 密閉容器の内容物を実施例 1-(3) と同様に処理することにより、平均粒子径  $77\ \mu\text{m}$  のマイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例 1-(3) と同様の方法で、マイクロスフェア粒子の塩化メチレン含有率を算出したところ、 $50000\ \text{ppm}$  であった。

#### 比較例 4

15 (1) 実施例 6-(1) で得られるエマルションを予め  $500\ \text{mL}$  の水を入れた、第 2 図に記載の密閉容器(内径： $110\ \text{mm}$ ；内容積： $1\ \text{L}$ )に注ぎ、マグネットスターラ(IS-3DS；池田理化製)を用いて、 $40\ \text{mm}$  のテフロン製攪拌子により、室温で 1 時間、 $600\ \text{rpm}$  で攪拌する。

20 (2) 密閉容器の内容物を実施例 1-(3) と同様に処理したが、固体化していなかったため、マイクロスフェア粒子を得ることができなかった。

#### 比較例 5

(1) 実施例 7-(1) で得られるエマルションを第 3 図に記載の密閉容器(内径： $80\ \text{mm}$ ；内容積： $800\ \text{mL}$ )中で、スリーワンモータ(BL-600；HEIDON社製)に装着した直径  $50\ \text{mm}$  の 4 枚攪拌羽根(プロペラ R 型；HEIDON社製)により室温で 1.5 時間、 $400\ \text{rpm}$  で攪拌する。

25 (2) 密閉容器の内容物を実施例 7-(3) と同様に処理することにより、平均粒子径  $35.4\ \mu\text{m}$  のマイクロスフェア粒子を得る。

なお、実施例 1-(3) および実施例 5-(3) と同様の方法で算出したところ、マイクロスフェア粒子のビタミン  $B_{12}$  および塩化メチレン含有率はそれぞれ 7.

9%および22600ppmであり、また、ビタミンB<sub>12</sub>の取り込率は、仕込み量の79.2%であった。

#### 実験例1

第2図に記載の密閉容器(内径110mm：内容積：1L)に1%塩化メチレン水溶液を1L添加し、マグネットスターラ(IS-3DS；池田理化製)を用いて、40mmのテフロンコート攪拌子により、室温、600rpmで攪拌すると同時に、容器内に挿入した円筒型シリコーンゴム製中空糸膜モジュール(NAGASEP M60-1800円筒形)を用い、中空糸膜の内側に窒素ガスを通気して容器内から塩化メチレンを除去する。この際の窒素ガス通気速度は130mL、520mL、1.8L、4L/minの通りとする。

一定時間毎に少量の試験液をサンプリングしガスクロマトグラム装置で塩化メチレン濃度を測定(実施例1に記載の方法で測定。但し、塩化メチレン水溶液で作成した検量線により、サンプル中の塩化メチレン濃度を算出)した。この濃度推移より、通気開始時の塩化メチレン濃度に対するサンプリング時の塩化メチレン濃度を百分率(水溶液の1%を100とする)で表し、時間に対してプロットしたものを第6図に示す。

#### 実験例2

実施例10、11、12で得られるタルチレリン含有マイクロスフェア製剤をそれぞれマイクロスフェア製剤1、2、3とし、それぞれの10mgを正確に秤量して、容量15mLの蓋付試験管に移した。ここに1/30Mリン酸緩衝液(pH7.4)10mLを加え、密栓後、37℃に温度調節した空気恒温槽内(バイオチャンバーBC-1200、TAITEC製)に設置した回転培養機(RT-50、TAITEC製)に装着し、回転速度25rpmで回転させた。予め決められた時間毎に溶出液をサンプリングし、サンプリングした溶出液の容量だけ新たに1/30Mリン酸緩衝液を添加し、同様の操作を繰り返してマイクロスフェア中から溶出したタルチレリンをHPLC法で算出した。37℃におけるマイクロスフェアからのタルチレリン(TRH誘導体)積算溶出量を溶出期間に対してプロットしたものを第7図に示す。

#### 実験例3

実施例 13 で得られた酢酸リユープロレリン含有マイクロスフェア製剤をマイクロスフェア製剤 4 とし、5 mg を正確に秤量し、容量 15 mL の蓋付試験管に移した。このようにして用意した蓋付試験管 5 本のそれぞれに 0.05% Tween 80 (ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、日光ケミカルズ製) 含有 1/30 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 10 mL を加え、密栓後、37℃ に温度調節した空気恒温槽内 (バイオチャンバー BC-1200、TAITEC 製) に設置した回転培養機 (RT-50、TAITEC 製) に装着し、回転速度 25 rpm で回転させた。予め決められた時間に、1 本ずつ試験管を取り出し、分散しているマイクロスフェア粒子を沈降させるために、遠心分離機 (KN-30F、久保田商事社製) で 2000 rpm、10 分間遠心した。上清を取り除き、さらに水分を蒸発させるため、シリカゲルを添加したガラス製デシケーター中で減圧下に一夜保存した。この試験管に 1.5 mL のアセトニトリルを添加し、乾燥させたマイクロスフェア粒子を溶解させた。その後、0.5 M 塩化ナトリウム溶液 3.5 mL を添加し、沈殿物を分離するために 2000 回転で 10 分間遠心分離し、得られた上清 200  $\mu$  l を HPLC 法で定量し、別途作成の検査線から、マイクロスフェア中に残存する酢酸リユープロレリン量を推定した。37℃ におけるマイクロスフェア中の残存量を溶出期間に対してプロットしたものを第 8 図に示す。

産業上の利用の可能性

本発明の方法によれば、エマルションから水中乾燥法によりマイクロスフェアを製造するに際し、気体分離膜を備えた装置を用いて、エマルションを気体分離膜の一方の側から供給し他方の側へ有機溶媒を留去することにより、きわめて効率よく有機溶媒を除去できるうえ、一連の操作を密閉系で行うことができるため、環境衛生上からもきわめて優れたマイクロスフェアの改良製法が提供される。

## 請 求 の 範 囲

1. 水より沸点の低い有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したエマルジョンから水中乾燥法でマイクロスフェアを製造するにあたり、  
5 (1) 気体分離膜を備えた装置を用い、(2) 水中乾燥に付されるエマルジョンを気体分離膜の一方の側に供給し、(3) 気体分離膜の他方の側へエマルジョンに含まれる有機溶媒を留去することを特徴とするマイクロスフェアの製法。
2. 該有機相に薬物が含まれている請求項 1 に記載のマイクロスフェアの製法。
3. 該薬物が水難溶性ポリマーの重量に基づいて 0.01～60 重量%の量で  
10 含まれている請求項 2 に記載のマイクロスフェアの製法。
4. 該薬物含有有機相が、水難溶性ポリマー溶液に薬物が直接溶解もしくは分散されているか、水難溶性ポリマー溶液に薬物の水溶液が分散されているか、または 1 種の水難溶性ポリマー溶液中に他の水難溶性ポリマーの溶液が分散しており、分散したポリマー溶液に薬物が溶解もしくは分散されている、請求項 3 に記  
15 載のマイクロスフェアの製法。
5. 水難溶性ポリマーが、水難溶性の生体内分解性ポリマーである請求項 1～4 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。
6. 水難溶性の生体内分解性ポリマーがヒドロキシ脂肪酸のポリエステルである請求項 5 に記載のマイクロスフェアの製法。
7. ヒドロキシ脂肪酸のポリエステルが、ポリ乳酸、乳酸－グリコール酸共重  
20 合体、または 2－ヒドロキシ酪酸－グリコール酸共重合体から選ばれる 1 種または 2 種以上である請求項 6 に記載のマイクロスフェアの製法。
8. 有機相において水難溶性ポリマーが 0.01～90 重量%の濃度で含有される請求項 1～7 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。
9. 水より沸点の低い有機溶媒が、ハロゲン化脂肪族炭化水素系溶媒、脂肪族  
25 エステル系溶媒、芳香族炭化水素系溶媒、脂肪族炭化水素系溶媒、ケトン系溶媒、およびエーテル系溶媒から選ばれる 1 種または 2 種以上である請求項 1～8 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。
10. 有機溶媒が、その留去条件において、水の沸点より 15～60℃低い沸

点を有する請求項 9 に記載のマイクロスフェアの製法。

1 1. 有機溶媒が塩化メチレン、クロロホルムおよび酢酸エチルから選ばれる 1 種である請求項 9 に記載のマイクロスフェアの製法。

5 1 2. 水相が、乳化剤、ポリエチレンヒマシ油誘導体、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、レシチン、およびゼラチンから選ばれる 1 種または 2 種以上を含む請求項 1 ～ 1 1 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。

10 1 3. エマルションにおいて、水相が有機相の量に対して 1 ～ 1 0, 0 0 0 倍の容量で含まれる請求項 1 ～ 1 2 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。

1 4. 気体分離膜が浸透気化膜または多孔性膜である請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。

1 5. 気体分離膜が浸透気化膜である請求項 1 4 に記載のマイクロスフェアの製法。

15 1 6. 気体分離膜がシリコンゴム製浸透気化膜である請求項 1 5 に記載のマイクロスフェアの製法。

1 7. 気体分離膜が、複数個の中空糸状気体分離膜を束ねた形態で使用される請求項 1 4 ～ 1 6 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。

20 1 8. 気体分離膜の他方の側への有機溶媒の留去を、気体分離膜の該他方の側に通気するか、気体分離膜の該他方の側を減圧にするか、または気体分離膜の一方の側に供給されるエマルションを加温するかのいずれか 1 つの手段またはそれらの組合せによって行う、請求項 1 ～ 1 7 のいずれか 1 つに記載のマイクロスフェアの製法。

25 1 9. エマルションから一部をとりだし、これを気体分離膜の一方の側に供給し、有機溶媒留去処理後の液を元のエマルションに戻す操作を循環的に行う請求項 1 8 に記載のマイクロスフェアの製法。

2 0. エマルションをフィルターを通すことにより得られる水相の一部分のみをとりだし、これを気体分離膜の一方の側に供給する請求項 1 9 に記載のマイクロスフェアの製法。

21. 複数の中空糸状気体分離膜を束ねた形態で用い、水中乾燥に付されるエマルションの一部を該中空糸状気体分離膜の内側に導通して、有機溶媒を気体分離膜の外側へ留去させる請求項19または20に記載のマイクロスフェアの製法。

5 22. 中空糸状気体分離膜の束をエマルション中に浸漬し、中空糸状気体分離膜の内側に気体を通気して有機溶媒を留去する請求項18に記載のマイクロスフェアの製法。

23. 留去される有機溶媒を冷却し、または多孔性物質に吸収させて回収する請求項1～22のいずれか1つに記載のマイクロスフェアの製法。

10 24. 該水中乾燥によるマイクロスフェアの製造を密閉系で行う請求項1～23のいずれか1つに記載のマイクロスフェアの製法。

25. 水より沸点の低い有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したエマルションから水中乾燥法でマイクロスフェアを製造するための次の構成からなる装置

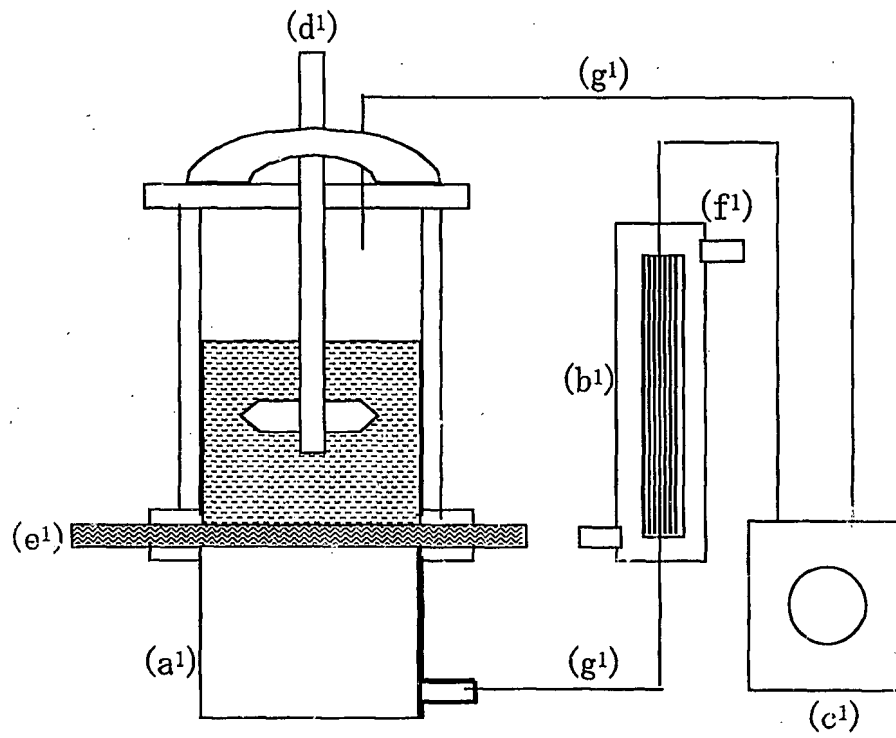
- 15 (a) エマルションを充填する容器部分、  
(b) エマルションから有機溶媒を留去するための気体分離膜モジュール、  
(c) 容器部分と気体分離膜モジュールとをつなぐ循環経路、および  
(d) エマルションを気体分離膜モジュールに循環するためのポンプ。

20 26. 水より沸点の低い有機溶媒および水難溶性ポリマーを含む有機相が水相に乳化したエマルションから水中乾燥法でマイクロスフェアを製造するための次の構成からなる装置

- (a) エマルションを充填する容器部分、および  
(b) エマルションから有機溶媒を留去するために、容器内のエマルションに浸漬する気体分離膜モジュール。

1/8

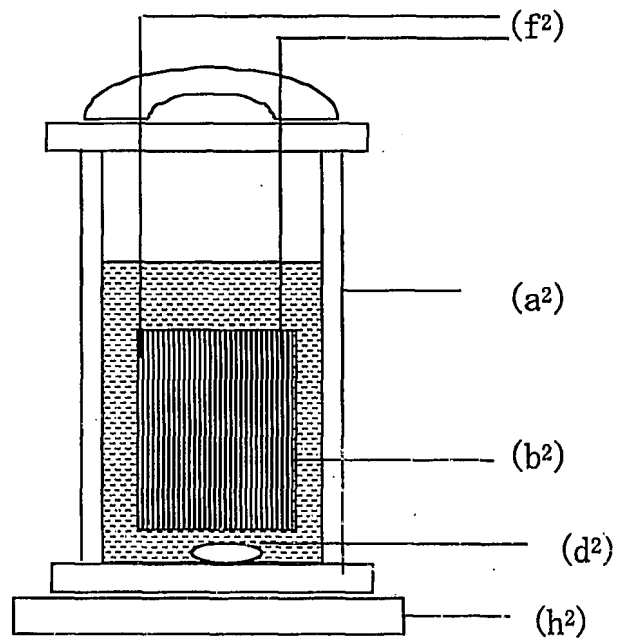
第1図





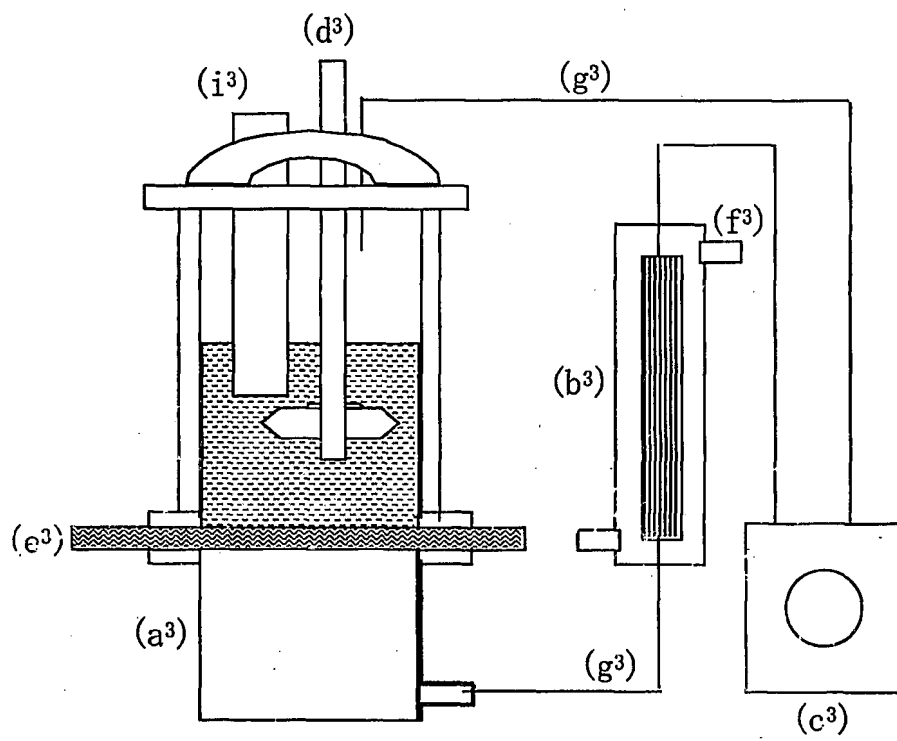
2/8

第2図



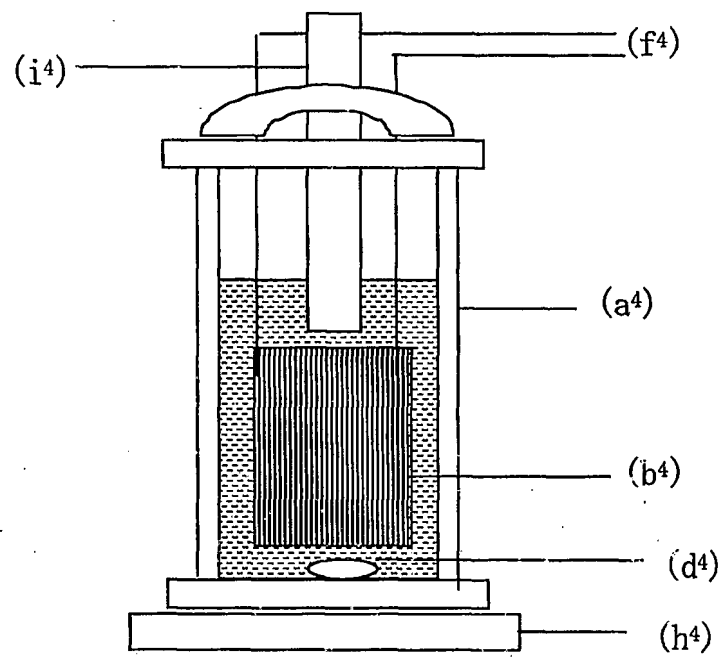
3/8

第3図



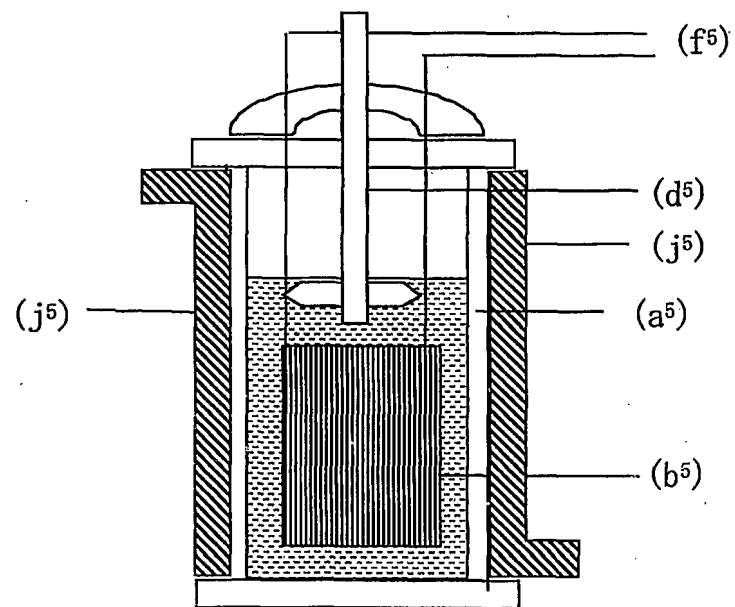
4/8

第4図



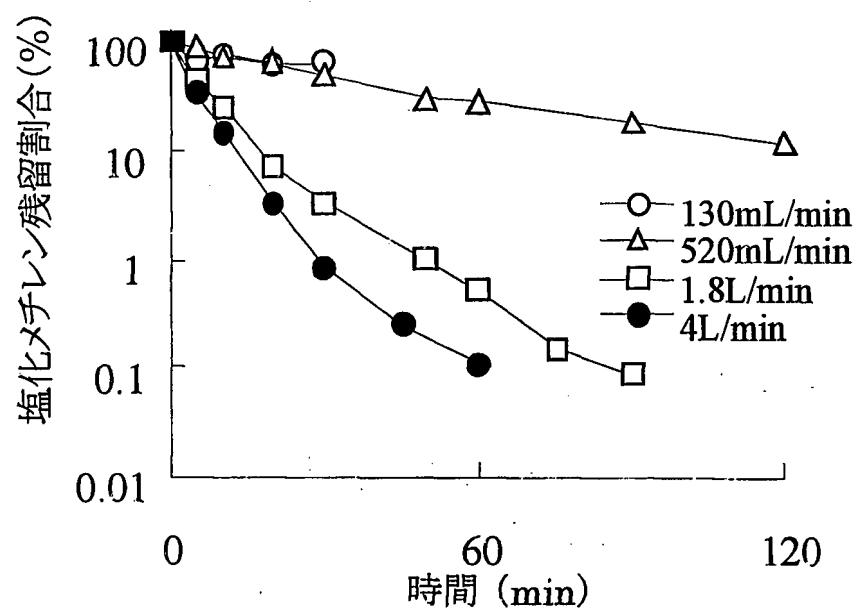
5/8

第5図



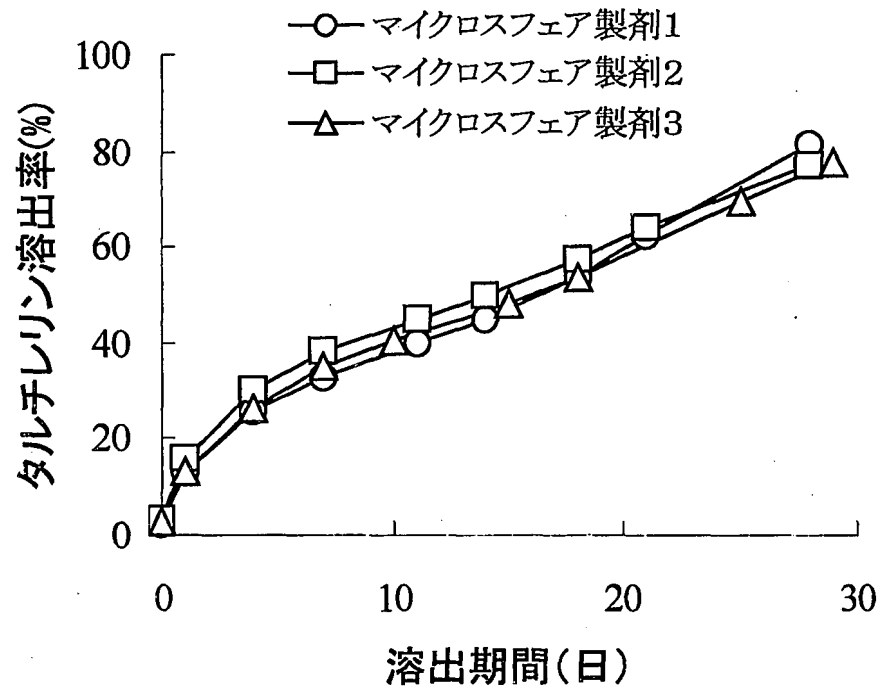
6/8

第6図



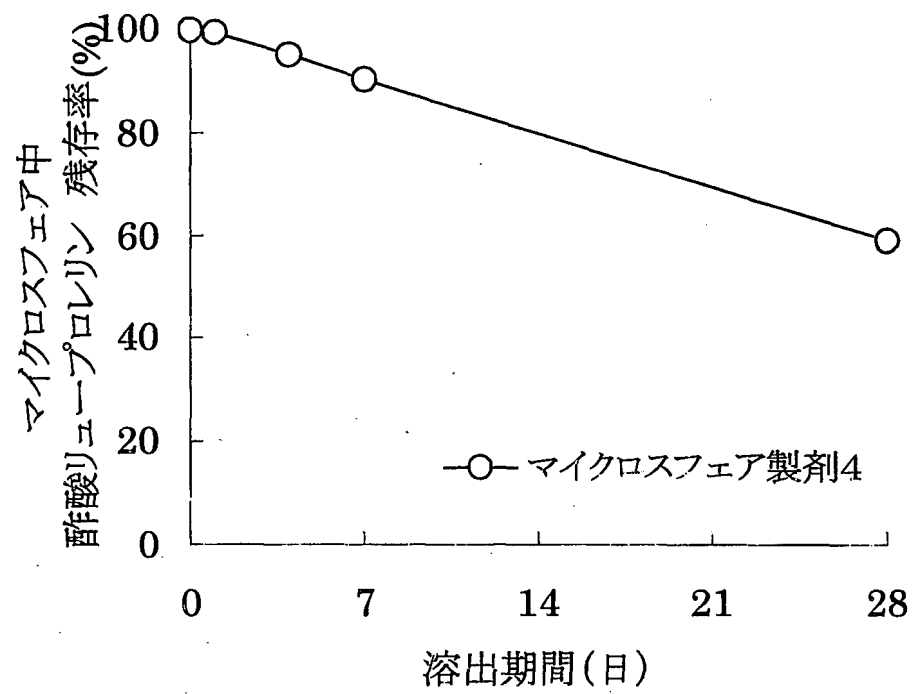
7/8

第7図



8/8

第8図



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03599

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> C08J3/12, A61K9/16, A61K47/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> C08J3/12, A61K9/16, A61K47/34, A61K9/50, B01J13/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 647449 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 12 April, 1995 (12.04.95), Full text & JP 7-69917 A                      & CA 2126619 A & FI 943071 A                        & NO 942396 A & CN 1109780 A                      & US 6087324 A	1-25
A	US 5770631 A (Dainichiseika Color & Chemicals Mfg. Co., Ltd.), 23 June, 1998 (23.06.98), Full text & AU 676971 A                        & CA 2157064 A & DE 69513166 D                      & EP 760249 A1	1-25

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not  
 considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing  
 date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
 cited to establish the publication date of another citation or other  
 special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
 means  
 "P" document published prior to the international filing date but later  
 than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
 priority date and not in conflict with the application but cited to  
 understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
 considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
 step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
 considered to involve an inventive step when the document is  
 combined with one or more other such documents, such  
 combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
 28 June, 2001 (28.06.01)

Date of mailing of the international search report  
 17 July, 2001 (17.07.01)

Name and mailing address of the ISA/  
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03599

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5278106 A (Shunzo ISHIHARA), 11 January, 1994 (11.01.94), Full text & CA 2077215 A            & EP 481892 A1 & JP 4-154605 A           & DE 69117649 C & AT 134900 T	1-25
A	JP 9-255590 A (Japan Synthetic Rubber Co., Ltd.), 30 September, 1997 (30.09.97), page 5, column 8, lines 1 to 7 (Family: none)	1-25
A	JP 59-206059 A (Kuraray Co., Ltd.), 21 November, 1984 (21.11.84), Full text (Family: none)	1-25
A	WO 99/25319 A1 (Depotech Corporation), 27 May, 1999 (27.05.99), Full text & EP 1030652 A1           & AU 1407599 T	1-25
A	JP 59-22603 A (Kanegafuchi Chem. Ind. Co., Ltd.), 04 February, 1984 (04.02.84), Full text (Family: none)	25-26
PA	JP 2001-62284 (Asahi Chem. Ind. Co., Ltd.), 13 March, 2001 (13.03.01), Full text (Family: none)	25-26
PA	JP 2000-281716 A (Nippon Zeon Co., Ltd.), 10 October, 2000 (10.10.00), Full text (Family: none)	1-25
PA	JP 2000-239152 A (Tanabe Seiyaku Co., Ltd.), 05 September, 2000 (05.09.00), Full text (Family: none)	1-25

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>1</sup> C08J3/12, A61K9/16, A61K47/34

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>1</sup> C08J3/12, A61K9/16, A61K47/34, A61K9/50, B01J13/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996

日本国公開実用新案公報 1971-2001

日本国登録実用新案公報 1994-2001

日本国実用新案登録公報 1996-2001

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP 647449 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.) 12.4月.1995 (12.04.95) 公報全文 & JP 7-69917 A & CA 2126619 A & FI 943071 A & NO 942396 A & CN 1109780 A & US 6087324 A	1-25
A	US 5770631 A (DAINICHISEIKA COLOR & CHEMICALS MFG. CO. LTD.) 23.6月.1998 (23.06.98) 公報全文 & AU 676971 A & CA 2157064 A & DE 69513166 D & EP 760249 A1	1-25

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.06.01

国際調査報告の発送日

17.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中村 泰三

4Q

9040

電話番号 03-3581-1101 内線 3468

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	US 5278106 A (ISHIHARA, Shunzo) 11.1月.1994 (11.01.94) 公報全文 & CA 2077215 A & EP 481892 A1 & JP 4-154605 A & DE 69117649 C & AT 134900 T	1-25
A	JP 9-255590 A (日本合成ゴム株式会社) 30.9月.1997 (30.09.97) 第5頁第8欄第1-7行 (ファミリーなし)	1-25
A	JP 59-206059 A (株式会社クレ) 21.11月.1984 (21.11.84) 公報全文 (ファミリーなし)	1-25
A	WO 99/25319 A1 (DEPOTECH CORP.) 27.5月.1999 (27.05.99) 公報全文 & EP 1030652 A1 & AU 1407599 T	1-25
A	JP 59-22603 A (鐘淵化学工業株式会社) 4.2月.1984 (04.02.84) 公報全文 (ファミリーなし)	25-26
PA	JP 2001-62284 A (旭化成工業株式会社) 13.3月.2001 (13.03.01) 公報全文 (ファミリーなし)	25-26
PA	JP 2000-281716 A (日本セメント株式会社) 10.10月.2000 (10.10.00) 公報全文 (ファミリーなし)	1-25
PA	JP 2000-239152 A (田辺製薬株式会社) 5.9月.2000 (05.09.00) 公報全文 (ファミリーなし)	1-25